

中華民國第 58 屆中小學科學展覽會 作品說明書

高級中等學校組 環境學科

探究精神獎

052601

以自製光譜儀進行優養化程度評估之探討

學校名稱：國立嘉義高級中學

作者： 高二 吳牧儒 高二 胡育嘉	指導老師： 黃冠夫 劉宏二
-------------------------	---------------------

關鍵詞：優養化、光譜儀

摘要

本研究利用優養化評估方法—卡爾森指標，以測量總磷、葉綠素、透明度之值評估校園內四個不同水體的優養化程度，並輔以氨氮及溶氧度(DO)進行判斷，並嘗試使用自製光譜儀對水樣進行吸收度之觀察，未能找出其吸收度與卡爾森指標之顯著關係。

壹、研究動機

在校園中，散布著4個大小不一的水體，有一池水目測呈深綠色，常被學生戲稱為綠豆湯。而經由地球科學科所學到的知識，我們認為池水的綠色是來自其中的藻類，這池水正是常見的優養化水體。經過肉眼進行觀察後，我們發現校園中其他三處水體似乎也有優養化的現象產生。讓我們不禁思考這四處水體到底哪一處的優養化的情形最為嚴重？

於是我們從網路上搜尋檢測優養化程度的方法，想要快速比較出四處水體的優養化程度，卻發現行政院環境保護署所公布的各項檢測標準方法，都存在一個問題，也就是過程複雜且冗長，需要太多專業設備及藥品，因此我們想要找出一個簡易、快速的方式來檢測水體的優養化程度。

貳、研究目的

利用 DIY 之簡易光譜儀拍攝水色並轉換成吸光度，取代傳統的標準檢驗方法，大量降低實驗的器材與藥品需求，此方法雖較為簡略、不精確，但卻可以快速得知水樣的相對優養化程度，讓優養化程度的檢測不再只是專家才能做的實驗，建立一套更加簡易、清楚的優養化指標。

- 一、以標準方法測試不同的水樣，並評估其優養化程度。
- 二、以自製光譜儀拍攝不同的水樣。
- 三、分析兩者之間的相關性。

參、研究設備及器材

- 一、實驗藥品：NaOH、NH₄Cl、Na₂S₂O₃、H₂SO₄、(NH₄)₂S₂O₈、C₈H₁₀K₂O₁₅Sb₂、
(NH₄)₆Mo₇O₂₄、C₆H₈O₆、KH₂PO₄、NaHSO₃、C₂₀H₁₄O₄、C₃H₆O、C₂H₅OH、DD water、
結晶酚 C₆H₅OH、NaOCl、亞硝鹽鐵氰化鈉 Na₂Fe(CN)₅NO • 2H₂O
- 二、實驗器材：100ml 燒杯、250ml 燒杯、1000ml 燒杯、100ml 定量瓶、250ml
錐形瓶、塑膠滴管、玻璃滴管、量筒、安全吸球、玻棒、刮勺、秤量紙、電
子秤、離心機、離心管、分光光度計、樣品槽、自製光譜儀、抽風櫃、DO
探針、黑白沙奇盤、鐵尺

肆、研究過程及方法

一、標準檢驗方法—總磷：分光光度計／維生素丙法

<引用自行政院環境保護署公佈之標準方法 NIEA W427.53B>

(一)方法概要

水樣以硫酸、過硫酸鹽消化處理，使其中磷轉變為正磷酸鹽形式
存在後，再加入鉬酸鉍、酒石酸銻鉀，使其與正磷酸鹽作用生成磷鉬酸
(phosphomolybdic acid)，經維生素丙(ascorbic acid)還原為藍色複合物鉬
藍(molybdenum blue)，以分光光度計於波長 880 nm 處測其吸光度定量之。
水樣如未經消化處理，所測得僅為正磷酸鹽之含量。

(二)步驟

(1.)水樣

1. 取 50 mL 水樣或適量水樣稀釋至 50 mL，置於三角燒瓶中，加入一
滴酚酞指示劑，如水樣呈紅色，滴加 11 M 硫酸溶液至顏色 剛好消失，
再加入 1.0mL 11 M 硫酸溶液。
2. 加入 0.4 g 過硫酸鉍。

3. 置於已預熱之加熱裝置上，緩慢煮沸 30~40 分鐘或直至殘留約 10 mL 液體（注意勿使水樣乾涸）。
4. 若以加熱裝置消化，樣品冷卻後以試劑水稀釋至約 30 mL，加入 1 滴酚酞指示劑，以 1 M 或適當濃度之氫氧化鈉溶液，調整樣品至淡粉紅色出現後，再以試劑水定量至 50.0 mL；若使用高壓滅菌釜消化，則冷卻後加入 1 滴酚酞指示劑，以 1 M 或適當濃度之氫氧化鈉溶液，調整樣品至淡粉紅色出現後，再以試劑水定量至 100 mL。
5. 取經消化後 50.0 mL 樣品或適量樣品稀釋至 50.0 mL，置於三角燒瓶中，加入 8 mL 混合試劑，混合均勻後，在 10~30 分鐘內以分光光度計於波長 880 nm 處讀取吸光度，並由檢量線求得磷濃度(mg P/L)。

(II.)正磷酸鹽

1. 樣品於分析前可滴加入酚酞指示劑測試 pH 值，如水樣呈紅色，則滴加 5 M 硫酸溶液至顏色剛好消失。
2. 取 50.0 mL 經調整過 pH 之水樣或適量經稀釋之水樣 50.0 mL，置於三角燒瓶中，加入 8 mL 混合試劑，混合均勻後，在 10~30 分鐘內以分光光度計於波長 880 nm 處讀取吸光度，並由檢量線求得磷濃度(mgP/L)。

(III.)檢量線製備

- 1.磷標準儲備溶液：在 1,000 mL 量瓶內，溶解 0.2197 g 無水硫酸二氫鉀（105°C，乾燥 1 小時）於試劑水，稀釋至刻度；1.00 mL=50.0 µg P。保存期限 1 個月。
- 2.磷標準溶液（I）：在 1,000 mL 量瓶內，以試劑水稀釋 10.0 mL 磷標準儲備溶液至刻度；1.00 mL=0.50 µg P。使用前配製。
- 3.磷標準溶液（II）：在 1,000 mL 量瓶內，以試劑水稀釋 100 mL 磷

標準溶液（ I ）至刻度；1.00 mL=0.05 µg P。使用前配製。

4.在分光光度計線性範圍內，以磷標準溶液（ I ）或（ II ）配製 一個空白和至少五種不同濃度的檢量線標準溶液，例如若採用 1 cm 樣品槽時，檢量線範圍為 0.02~0.50 mg P/L；若採用 5 cm 樣品槽時則為 0.005~0.050 mg P/L，再依(二)步驟(II.)2.之相同步驟操作，繪製吸光度與磷濃度 (mg P/L)之檢量線。

二、 標準檢驗方法—氨氮：靛酚比色法

<引用自行政院環境保護署公佈之標準方法 NIEA W448.51B>

(一)方法概要

含有氨氮及銨離子之水樣於加入次氯酸鹽（Hypochlorite）及酚溶液反應，生成深藍色之靛酚（Indophenol），此溶液之顏色於亞硝鹽鐵氰化鈉溶液（Sodium nitroprusside）之催化後會更加強烈。使用分光光度計於波長 640 nm 處進行比色分析，即可求得水樣中氨氮之濃度。

(二)適用範圍

本方法適用於飲用水水質、飲用水水源水質、地面水體、地下水、放流水、廢（污）水及海域水質中氨氮之分析。使用光徑 1 cm 樣品槽時，方法偵測極限約 0.01 mg/L。

(三)干擾

- (I.)樣品中若含有餘氯，會對樣品造成干擾。
- (II.)利用檸檬酸鹽（Citrate）可將鈣、鎂離子錯合，可除去此類離子在高 pH 值狀態下產生沉澱所造成的干擾。
- (III.)濁度會形成干擾，可藉由蒸餾或過濾去除之。
- (IV.)如有硫化氫存在時，可以稀鹽酸酸化樣品使 pH 值至 3，然後再以劇烈曝

氣，直至硫化物臭味不被偵測到。

(四)採樣與保存

1.採樣：使用清潔並經試劑水清洗過之塑膠瓶或玻璃瓶。在取樣前，採樣瓶可用擬採集之水樣洗滌二至三次。如果樣品中含有餘氯，則採樣時應立即添加適量的硫代硫酸鈉溶液（去氯試劑）處理（添加量請參考註 1）。

2.保存：樣品之運送及保存須在 4 °C 以下暗處冷藏，並於 24 小時內檢測。若樣品為含有機性及含氮性物質高的樣品或需保存較長時間之樣品，採樣後應加入適量（勿過量）的濃硫酸，調整 pH 值至小於 2，在此條件下樣品可保存七天。

(五)步驟

1.設備的清洗準備：取 500 mL 試劑水於燒杯中，加入 20 mL 硼酸鹽緩衝溶液，以 6 M 氫氧化鈉溶液調整 pH 至 9.5 後，移入蒸餾燒瓶中，加數粒沸石，加熱蒸餾直至蒸出液無氨氮為止。將蒸餾裝置的連接裝配移開，保留沸石於蒸餾瓶中，倒出殘留溶液，捨棄之。直至樣品開始蒸餾前，須避免污染。

2.樣品的準備：於經上述處理之蒸餾瓶中，加入 500 mL 已去氯樣品或適當量樣品以試劑水稀釋至 500 mL，當氨氮含量低於 0.1 mg/L 時，樣品體積宜使用 1000 mL（在收集樣品時，應加入等量的硫代硫酸鈉溶液以去除餘氯）。如果需要，以稀釋的硫酸或氫氧化鈉溶液，調整 pH 值至 7 左右。準備好的樣品，再添加 25 mL 硼酸鹽緩衝溶液，然後以 6 M 氫氧化鈉溶液調整 pH 值至 9.5。

3.樣品蒸餾：以每分鐘 6 至 10 mL 速率蒸餾，收集氨蒸餾液至 500 mL 定量瓶或其他適用的蒸餾接收容器，上述量瓶內須置放 50 mL 0.02 M 的硫酸（吸收）

溶液；保持蒸出液滴出口在硫酸（吸收）溶液之液面下 2 公分；收集蒸餾液至少 200 mL 於氨蒸餾液的接收容器內，再將蒸餾裝置的輸送管末端離開吸收溶液面，不再與其接觸，然後繼續蒸餾數分鐘，以洗滌冷凝器及輸送管線至蒸餾液約 300 mL，再以試劑水稀釋定量至 500 mL。

(六)檢量線製備

(I.) 氨氮儲備溶液 (Ammonium stock standard): 取 3.819 g NH_4Cl (預先於 110 °C 乾燥二小時) 溶解於試劑水中，並稀釋至 1000 mL (此溶 1.00 mL = 1.00 mg N = 1.22 mg NH_3)。

(II.) 氨氮標準中間溶液：取 10.0 mL 氨氮儲備溶液，至 1000 mL 量瓶內，稀釋至刻度 (此溶液 1.00 mL = 10.00 μg 氨氮)。

(III.) 氨氮標準溶液：取 10.0 mL 氨氮中間溶液，至 100 mL 量瓶內，稀釋至刻度 (此溶液 1.00 mL = 1.00 μg 氨氮)。

1. 取 25.0 mL 試劑水，於 50 mL 之附蓋三角錐瓶中或其它適用樣品反應瓶，再依次添加入 1.0 mL 酚溶液、1.0 mL 亞硝醯鐵氰化鈉溶液及 2.50 mL 氧化劑溶液 (每次加入各溶液後，均須混合均勻)，使樣品呈色。靜置於室溫 (22 至 27 °C) 暗處下，至少 1 小時，此顏色可穩定 24 小時以上。以此溶液將分光光度計於波長 640 nm 處歸零。

2. 精取適量之氨氮標準溶液 (1.0 mg/L) 於 100 mL 量瓶，由高濃度至低濃度序列稀釋成至少五組不同濃度之檢量線製備用溶液。如：0.02、0.04、0.06、0.10、0.20 mg/L 或其他適當之序列濃度 (檢量線配製濃度不可大於 1.0 mg/L)。

3.再取 25.0 mL 上述配製之序列濃度檢量線溶液，於 50 mL 之附蓋三角錐瓶中或其它適用樣品反應瓶，並依七(二)1. 的檢測步驟使樣品呈色，製備檢量線。

4.量測在波長 640 nm 之吸光度，以標準溶液濃度 (mg/L) 為 X 軸，吸光度為 Y 軸，繪製一吸光度與氨氮濃度 (mg / L) 之檢量線。

(七)結果處理

由樣品溶液測得之吸光度，代入檢量線可求得溶液中氨氮的濃度 (mg/L)，再依下式計算樣品中氨氮的濃度。

$$A = A' \times F$$

A：樣品中氨氮的濃度 (mg/L)。

A'：由檢量線求得樣品溶液中氨氮的濃度 (mg / L)。

F：稀釋倍數。

三、標準檢驗方法—葉綠素：乙醇萃取法

(一)方法概要

以 99.5%之乙醇溶液溶出葉綠素，離心後取上清液以分光光度計於波長 665nm、649nm 處測其吸光度定量之。

(二)實驗步驟

1.取水樣 5ml 至於離心管中進行離心(3000rpm，10min)。

2.除去上清液後，留下沉澱物於離心管中。

3.加入 99.5%之乙醇溶液 5ml 後,搖晃離心管使沉澱物與乙醇溶液混合均勻,並放置於暗處隔夜。

4.取隔夜後之水樣—乙醇溶液進行離心(3000rpm, 10min)。

5.取上清液並用分光光度計於 665nm、649nm 處測其吸光度定量之。

(三)結果處理

葉綠素 a 含量= $(13.7 \times A_{665} - 5.76 \times A_{649}) \times \text{總萃取毫升數}$

葉綠素 b 含量= $(25.8 \times A_{649} - 7.60 \times A_{665}) \times \text{總萃取毫升數}$

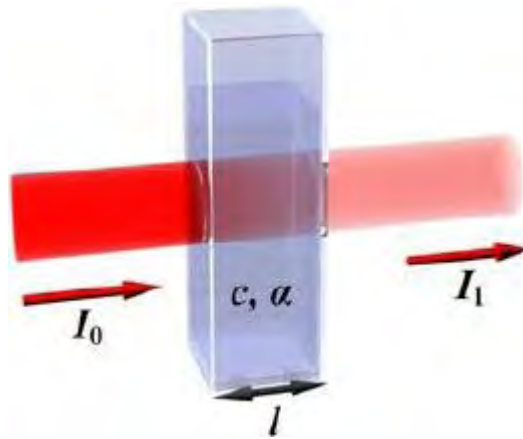
葉綠素總量= $(6.1 \times A_{665} + 20.04 \times A_{649}) \times \text{總萃取毫升數}$

四、光譜儀基本原理

(一)比爾定律(Beer--Lambert Law)

又稱作比爾——朗伯定律(Beer-Lambert Law),是一個光學基礎定律。當光穿透樣品溶液時,光的吸收度(A)與吸收係數(α)、光徑長(l)、濃度(c)三者均呈正比: $A = \alpha lc$, 其中 α 為吸收係數 (absorptivity, 或稱 absorption coefficient), 亦可稱為消光係數(extinction coefficient, k)。然而,若是在光徑長 b 使用了 cm 作為單位,並且濃度 c 使用 M 作為單位,吸收係數以 $M^{-1}cm^{-1}$ 作為單位,那麼這時候的吸收係數,即可稱為莫耳吸收係數(molar absorptivity),其符號以 ϵ 來代表。莫耳吸收係數 ϵ 的使用相當頻繁,以至於還比吸收係數 a 來的常出現。因此,常見的比爾定律表示方法為: $A = \epsilon bc$

此外,我們需要瞭解的另一個重要定義是光的吸收度(absorbance)。當一束光線照射到一樣品溶液時,部份的光線會被樣品溶液吸收,剩下的光線則穿透樣品溶液,即原本光入射線強度 I_0 , 穿透光線強度變為 I_1 , 此時光的穿透度 T(Transmittance), 即光穿透的比例為 I_1 / I_0



圖一、比爾定律吸收光路徑的示意圖。(圖片來源：WIKIPEDIA--Beer - Lambert law)

反言之，部份光被樣品吸收，定義光的被吸收度 A 為

$$A = -\log T = -\log \frac{I_1}{I_0}$$

吸收度 A 為一個大於等於零的實數；一般而言落在 0 至 2 之間，其中 0 所代表的意義即為完全無吸收，2 則代表有百分之九十九的光通過時被吸收了。

之所以要定義吸收度，是因為光的穿透度，並不與濃度和光徑長呈完全負相關。例如光穿過兩杯一樣的溶液，在第一杯被吸收了 50%，並不會穿過第二杯後就會全部被吸收。而只有吸收度，是與光徑長、濃度呈正比的。例如光穿過兩杯一樣的溶液，在第一杯被吸收了 50%，那麼就相當於對於第二杯的入射光只有 50%，那麼自然第二杯就該只吸收 25%，其吸收的總光量只有增加一半，然而其總吸收度確實增加了一倍。

(二)光譜儀分類

- (1.) 反射式光譜儀：入射光先經過一反射面鏡，再將反射光打到一光柵上，不同的光會經過不同的光柵，因此就會打到不同的偵測器，因此可以測出不同波長的強度相對關係。

(II.) 透射式光譜儀：入射光通過一聚焦透鏡，不同波長的光就會被分離而通過不同的透明光柵，此時到達不同的偵測器，因此可以測出不同波長的強度相對關係。

(III.) 多重光纖式光譜儀：先將光線耦合至光纖中，這時經由多工分離器，可以將不同波長的光分開至不同的光纖中，再分別連接到不同偵測器中，因此可以測出不同波長的強度相對關係。

(三)DIY 之簡易光譜儀



狹縫：利用銳利刀片邊緣，製成單狹縫

準直鏡：利用現成放大鏡將發散光折射成平行光

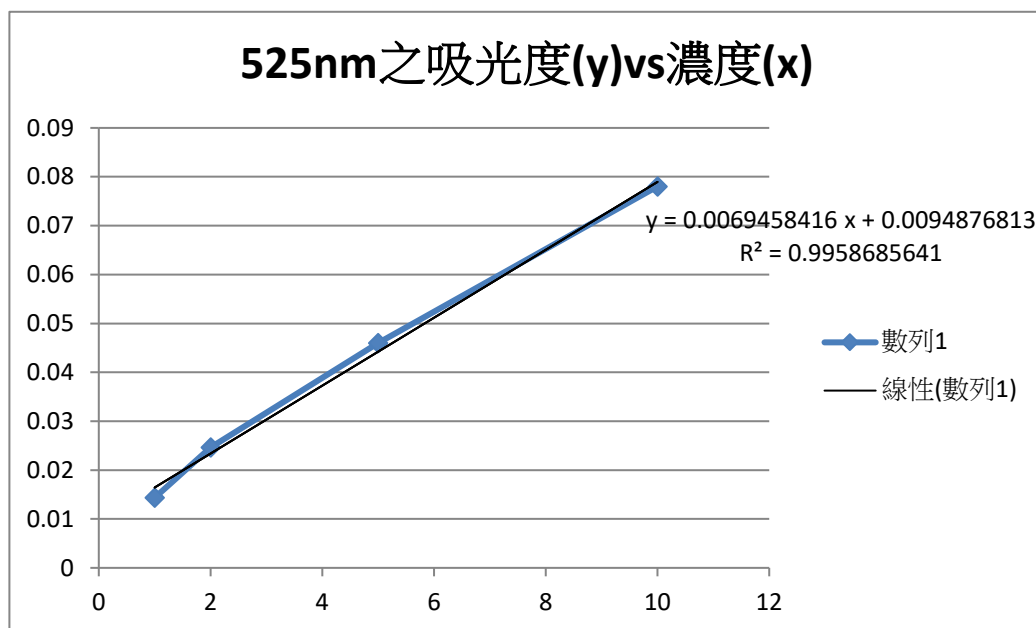
光柵：使用 Edmund 公司生產之 1000line/mm 的光柵片，使通過的平行光分散成連續光譜的形式

鏡頭及 CCD：使用 ZWO 公司生產之 ASI120mmCCD 進行光譜拍攝

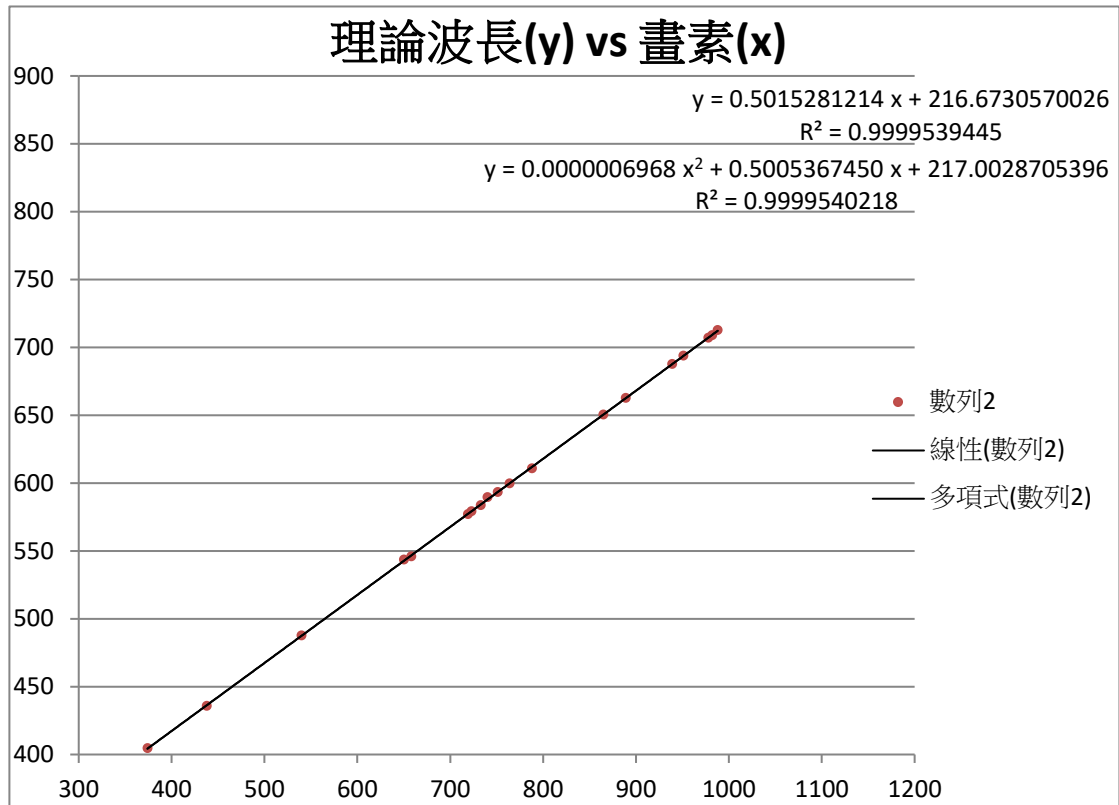
軟體：使用 ImagrJ 將所拍攝之光譜照片以像素—光強度的形式輸出成 Excel 檔，再利利用像素轉波長的公式，將 Excel 內的每一像素變成波長，以方便取得我們所需波段的光強度數據。

(四)自製光譜儀拍攝不同濃度物質實驗

在不同濃度(ppm)之過錳酸鉀(KMnO₄)下，使用自製光譜儀進行拍攝，以確認自製光譜儀所能拍攝物質最小濃度的極限為何，建立自製光譜儀可準確使用之濃度範圍及誤差範圍。



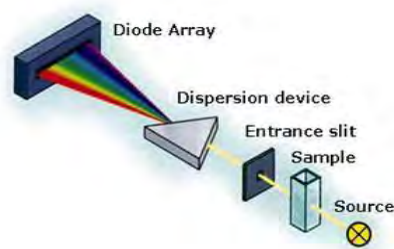
由上圖可知物質濃度在 1~10ppm 下，自製光譜儀具有高精準度。



上圖為以一般日光燈為標準光源之校準線，可以發現，其 R 平方值不管是用線性或是二次項都極高，因此自製光譜儀在準確度上是可以被相信的。

(四)分光光度計 UVIR (Thermo)其解析度為 2nm 波長範長 190~1100nm

分光光度計之原理，乃是利用可見光及紫外光之燈管 (Lamp) 做為光源，通過濾光鏡調整色調後，經聚焦後通過單色光分光稜鏡，再經過狹縫選擇波長，使成單一且特定波長之光線，而後射入樣品管中之水樣中，最後射入光電管中將光能轉換為電器訊號，藉由樣本及空白水樣間所吸收之光能量差，與標準液之能量吸收值相比較，便可律定樣本中之待測物濃度。



(五)優養化

優養化是指一片水域所涵容的養分，隨著時間逐漸增加的一種現象和過程。換句話說，優養化本來是水域自然生態系必然的演替過程。

一個湖泊在剛剛形成的時候，水中所溶解的各種礦物鹽類都很少，尤其是氮化物和磷酸鹽的濃度很低，因此限制了藻類的生長。慢慢地，雨水自上游集水區的山坡上沖蝕和溶解各類鹽類，匯聚成溪流，再流至湖泊累積，時間一久，湖水中的氮化物和磷酸鹽的濃度愈來愈高，藻類因而得以大量的繁殖。這些植物新陳代謝的產物以及集水區淤沙不斷淤積的結果，使得湖泊逐漸演變為沼澤，最後完全消失。

各種水體的老化過程，本來需要幾千年的時間，但是人類的干擾，尤其是大量有機質的排放，卻可以加速優養化的進行。水庫的優養化會使得藻類快速的繁增，造成所謂的「藻華」。藻類大量繁殖後，新陳代謝的結果會產生許多植物的遺骸，接著細菌需要耗用水中的氧氣來進行分解，因此水中的溶氧量大幅降低，可能導致棲息在當地水體中的魚類窒息而死。而且水體の色度和濁度也會增加，更會因而發出臭味，大大降低了水體的品質。

在自然狀態下，高山溪流中的氮、磷等營養元素不太容易累積，因此藻類的數量原本很少，主要是以附著在岩石上的小型矽藻為主，綠藻和藍綠藻都很少。在這種溪流環境生活的水生或草食性昆蟲，多半是以腐爛的植物葉子以及附著在石頭上的矽藻為食物。當溪水高度優養化之後，矽藻的比例大大的降低，而逐漸以絲狀的綠藻和藍綠藻為主。這時原來的水生昆蟲或濾食

性的魚類沒辦法以那些絲狀藻類為食，所以可能導致水生昆蟲相的變化，以及某些魚類族群的滅亡。

高山溪流和水庫的優養化現象與集水區的不當土地利用密切相關，當山坡上的原始植被遭到破壞的時候，土壤內的氮化物和硝酸鹽類的流失會增加好幾十倍。加上當山坡上的農地所施用的肥料，尤其是目前廣受喜愛，含有大量磷酸鹽類的雞糞，隨著雨水的沖刷，進入鄰近的溪流時，溪水和位在下游的水庫便會快速地優養化，降低水資源的品質，並且造成水體生態環境的變遷。

以古煥林(2005)之論文，優養化評估指標包含(1)總磷、(2)葉綠素 a、(3)氮、(4)透明度、(5)溶氧及其他生物指標。

(六)多變量分析—卡爾森指標

Carlson同時考慮總磷、葉綠素a及透明度三種指數以求得綜合之TSI值(即CTSI)，用以評估水體之優養化狀態：

CTSI < 40為貧養；40 ≤ CTSI ≤ 50為中養；CTSI > 50為優養。CTSI求法如下：

$$TSI(TP)=10 \left[6 - \left[3.70 - 0.98 \ln(TP) / \ln 2 \right] \right]$$

$$TSI(Chl a)=10 \left[6 - \left[2.04 - 0.68 \ln(Chl a) / \ln 2 \right] \right]$$

$$TSI(SD)=10 \left[6 - \ln(SD) / \ln 2 \right]$$

$$CTSI = \left[TSI(TP) + TSI(Chl a) + TSI(SD) \right] / 3$$

式中，TP：總磷濃度(μg/L)

Chl a：葉綠素a濃度(μg/L)

SD：透明度(m)

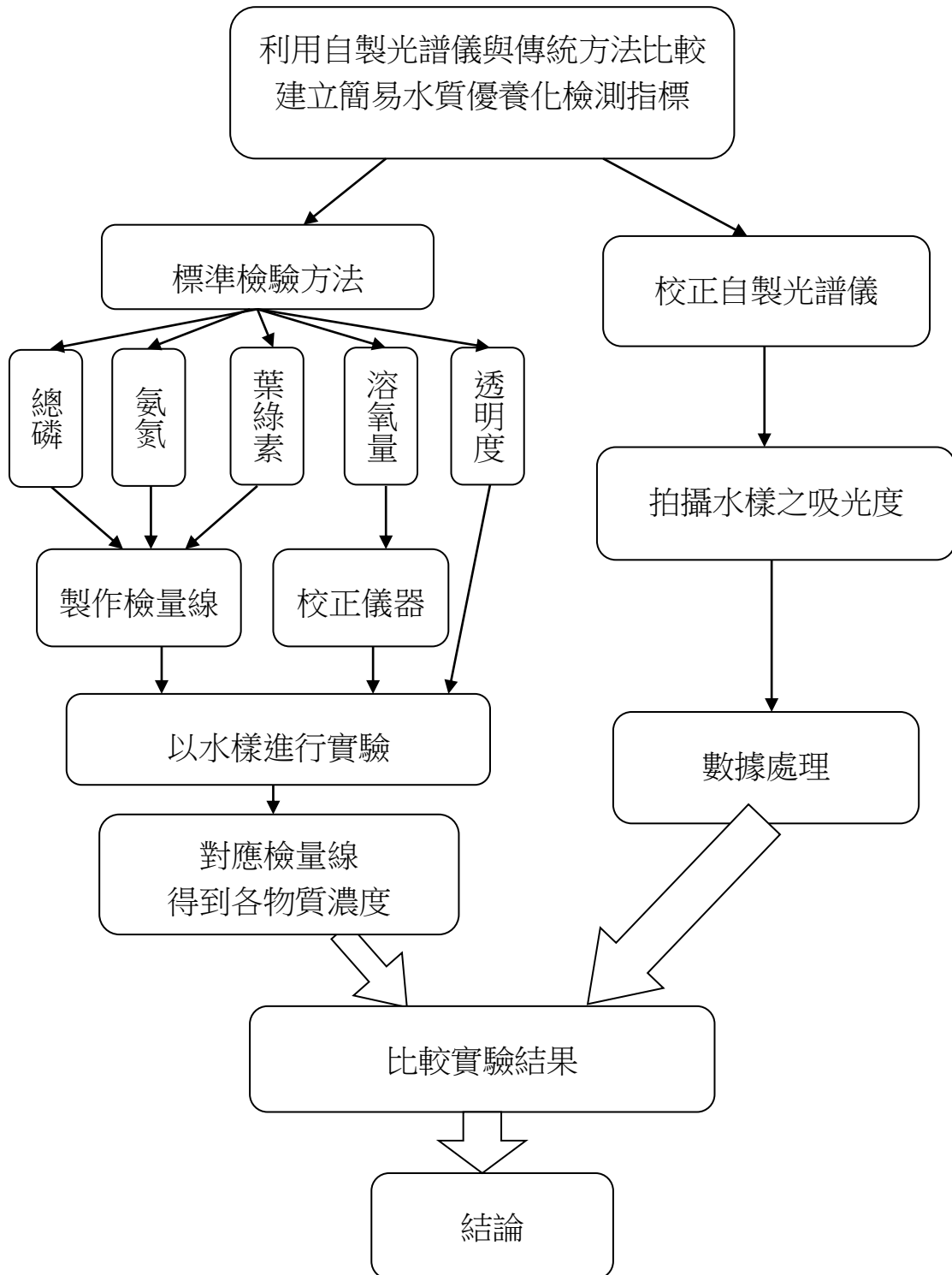
國內成功大學陳是瑩教授依據澄清湖生態研究之成果提出修正型 TSI，認為台灣地區水庫之水溫較高，判定優養之臨界值應可提高，故建議將Carlson法之臨界值修正為：CTSI < 50為貧養；50 ≤ CTSI ≤ 60為中養；CTSI > 60為優養。另外，Morihiro等人(1981)亦依日本的實際調查結果修正了其中的相關參數，結果如下：

$$TSI(CHL) = 10[2.46 + 1.09\ln(\text{Chl-a})]$$

$$TSI(SD) = 10[6.49 - 1.67\ln(\text{SD})]$$

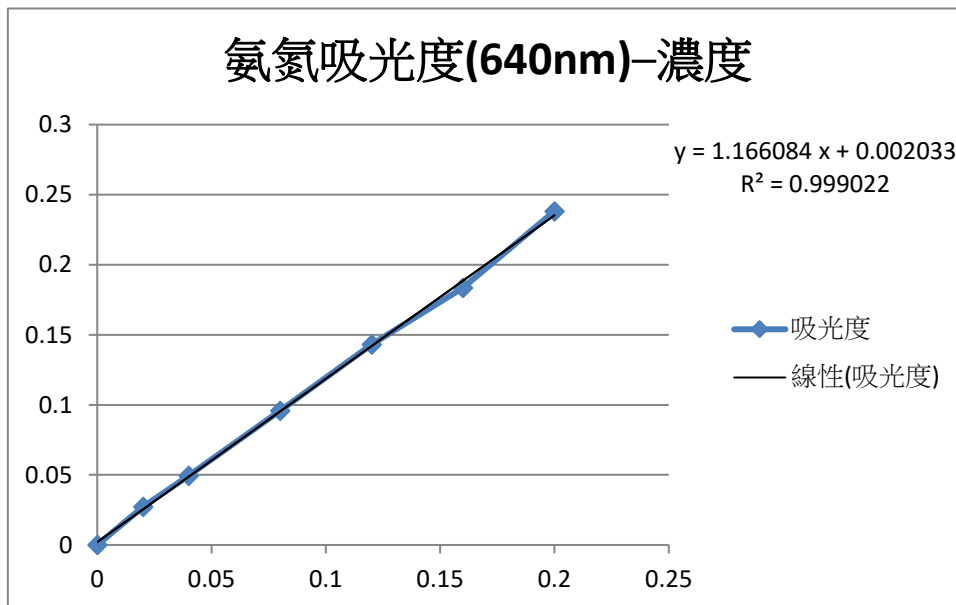
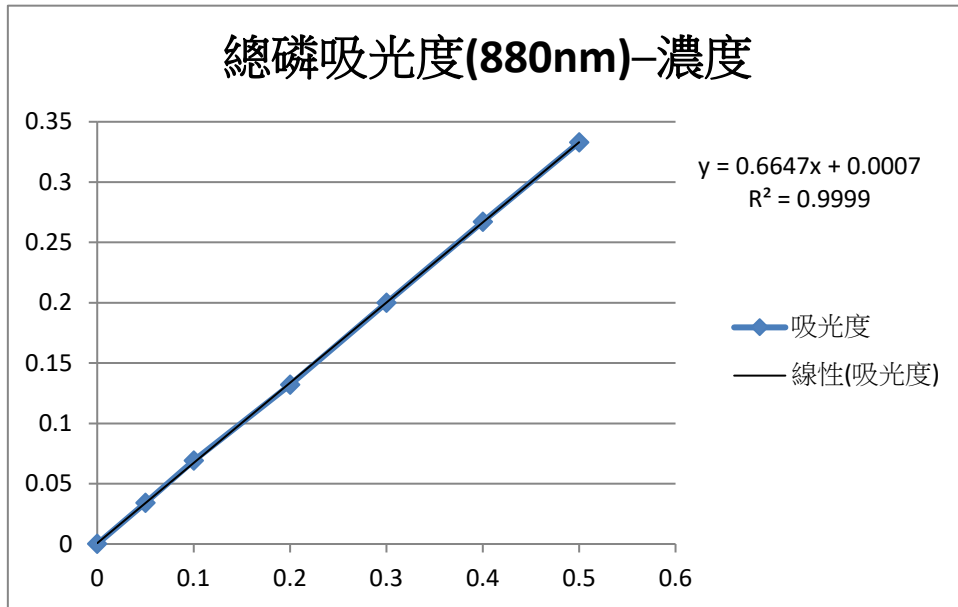
$$TSI(TP) = 10[9.78 - 1.26\ln(\text{TP})]$$

五、 實驗步驟

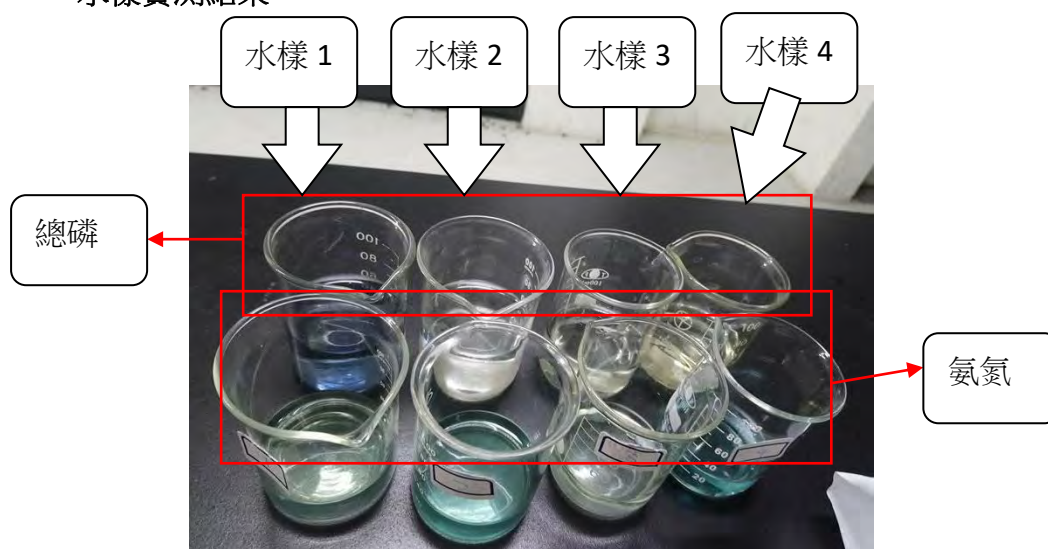


六、 檢量線

(一)總磷



七、 水樣實測結果。



(一)總磷

	水樣 1	水樣 2	水樣 3	水樣 4
880nm 之 ABS	0.067	0.054	0.283	0.036
總磷濃度(ppm)	0.099744	0.080187	0.424703	0.053107

(二)氨氮

640nm 之 ABS	1st	2nd	3rd	4st	average	氨氮濃度(ppm)
水樣 1	0.03	0.099	0.071	0.116	0.079	0.0764
水樣 2	0.271	0.396	0.425	0.457	0.38725	0.3090
水樣 3	0.04	0.084	-0.003	0.047	0.042	0.0485
水樣 4	0.153	0.024	0.376	0.389	0.2355	0.1945

(三)葉綠素

	649nm	665nm	chl a	chl b	chl all
水樣 1 1st	0	0.001			
水樣 1 2nd	-0.001	-0.001			
水樣 1 3rd	-0.003	-0.002			
average1	-0.00133	-0.00067	-0.00727	-0.14667	-0.15393
水樣 2 1st	0.011	0.037			
水樣 2 2nd	0.011	0.038			
水樣 2 3rd	0.009	0.035			
average2	0.010333	0.036667	2.214067	-0.06033	2.153733
水樣 3 1st	0.008	0.036			
水樣 3 2nd	0.009	0.028			
水樣 3 3rd	0.002	0.017			
average3	0.006333	0.027	1.6671	-0.209	1.4581
水樣 4 1st	0	0.007			
水樣 4 2nd	0.001	0.007			
水樣 4 3rd	0.001	0.009			
average4	0.000667	0.007667	0.505967	-0.20533	0.300633

(四)透明度

透明度	1st	2nd	3rd	average
水樣 1	N/A	N/A	N/A	N/A
水樣 2	15.5	15.5	14.5	15.16667
水樣 3	18	15.5	15.5	16.33333
水樣 4	24	21	23.5	22.83333

(五)溶氧

DO	水樣 1	水樣 2	水樣 3	水樣 4
DO(ppm)	5.66	15.1	9.62	6.21
O2(%)	66.9	166.2	110.8	72.4
溫度(C)	22.8	22.4	23.8	22.2

伍、結果

1. 水體及週遭環境

水樣 1



水樣 2



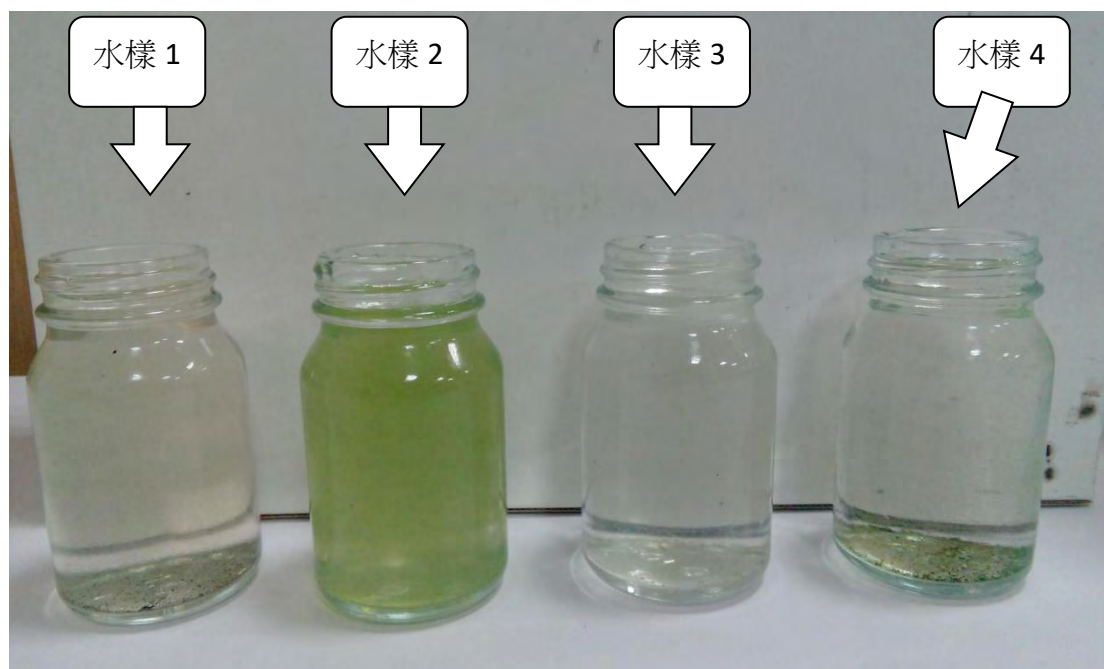
水樣 3



水樣 4



2.水樣(目測)



3.卡爾森指標

	TP	chl a	SD	TSI TP	TSI chl a	TSI SD	CTSI
1	0.099744	-0.00727	N/A	126.8449	0	N/A	42.28162
2	0.080187	2.214067	0.151667	129.5948	33.26366	96.39737	86.4186
3	0.424703	1.6671	0.163333	108.5902	30.17083	95.15977	77.9736
4	0.053107	0.505967	0.228333	134.7866	17.17401	89.56504	80.50856

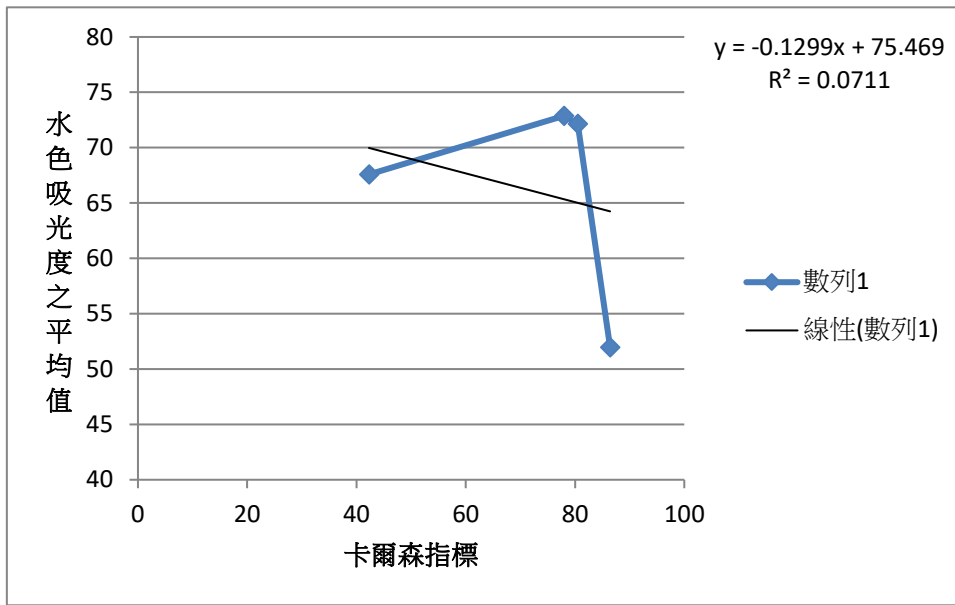
4.水色

	水樣 1	水樣 2	水樣 3	水樣 4
400-800nm 之 ABS 平均	67.58051	51.97256	72.87231	72.15138

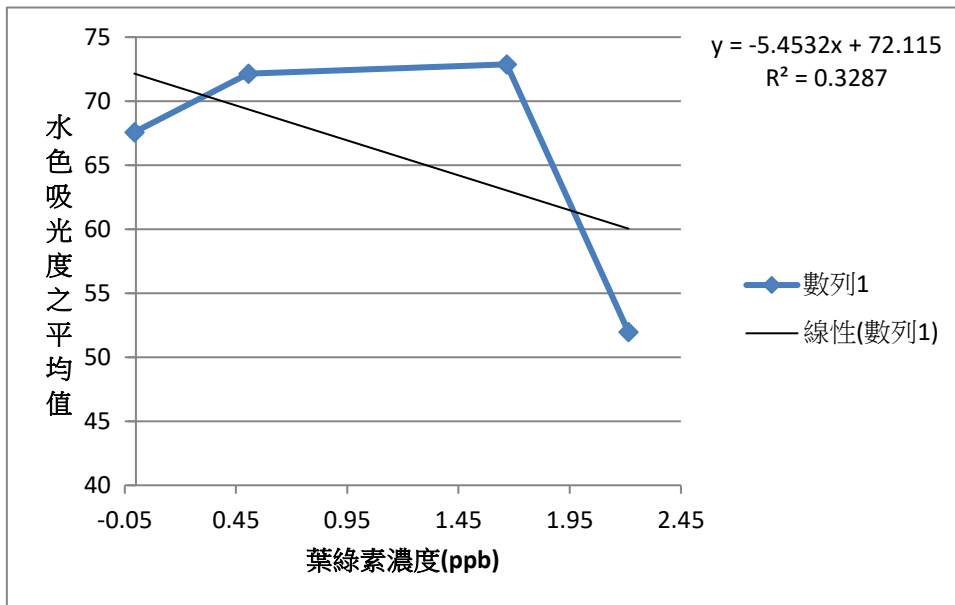
陸、討論

(一)推論其優養化的程度與水色的關係。討論葉綠素或其他與水色有關的東西。
相關係數的圖(優養化程度與水色之關係)

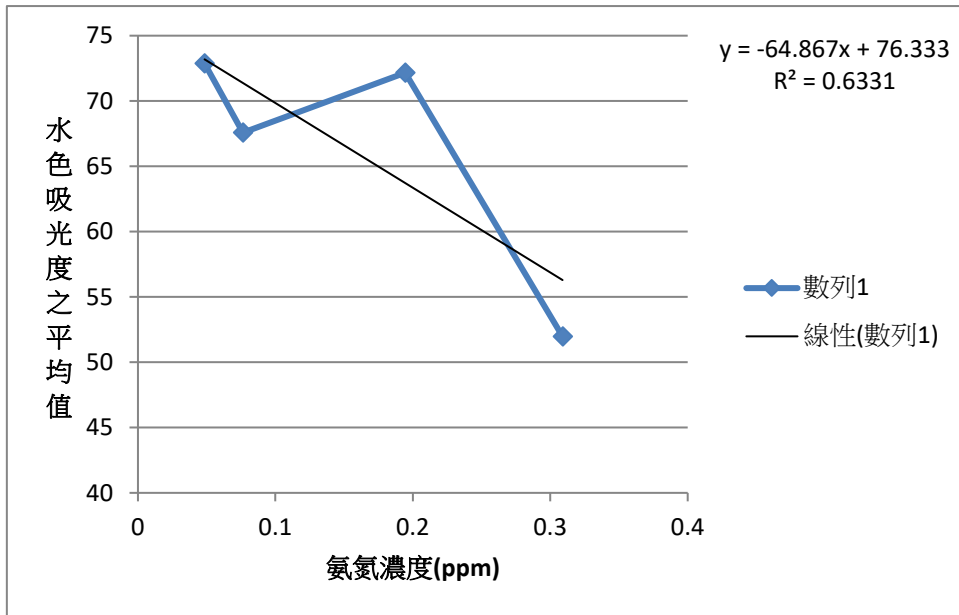
1. 卡爾森指標(由小到大)與水色關係



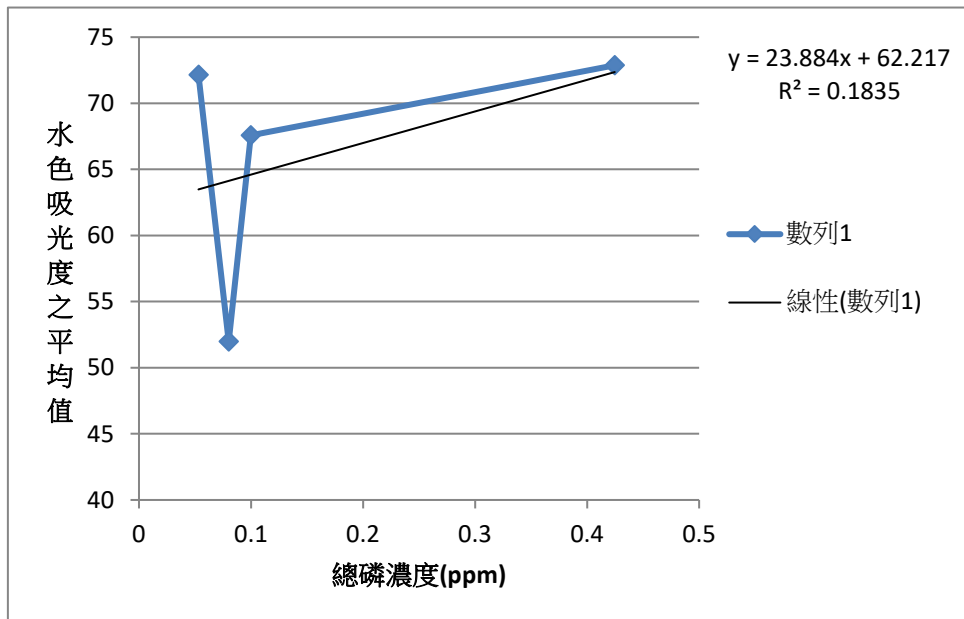
2. 葉綠素濃度(由小到大)與水色關係



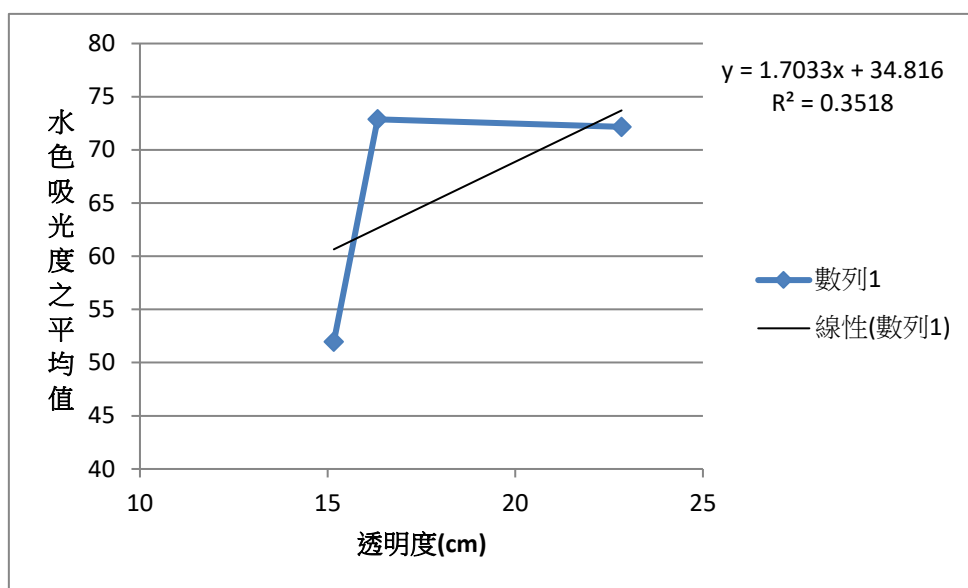
3. 氨氮濃度(由小到大)與水色關係



4. 總磷濃度(由小到大)與水色關係



5. 透明度(水樣 1 除外)與水色關係



(二)實驗誤差與來源

1. 在總磷實驗中我們發現 PH 值是影響鉬藍呈色的決定性因素，不只是水樣的 PH 值要盡量維持在 PH=7，我們還發現一旦調整呈色試劑中硫酸的濃度，就可以大幅改變呈色狀況，降低硫酸濃度會使低濃度的標準品也能呈現出淡淡的藍色，但也會讓高濃度的標準品顏色變得更深，反之亦然。
2. 在氨氮實驗中，呈色試劑容易受光照而變質，進而產生嚴重的實驗誤差。
3. 透明度：傳統之透明度判斷為利用沙奇盤方法，但此方案受限環境光源與不同操作者視力之誤差。
4. DO：由於溶氧探針非常敏感，所有輕微晃動皆會造成螢幕上讀值的提升。

(三) 依照各指標所得出各水體之優養化程度，如附表。

	水樣 1	水樣 2	水樣 3	水樣 4
CTSI	貧養	中養	貧養	中養
總磷	優養	優養	優養	優養
氨氮	貧養	優養	貧養	優養
chl a	貧養	貧養	貧養	貧養
DO	中養	優養	優養	中養

柒、結論

- 一、以自製光譜儀直接拍攝水色與各項指標之關係，具體如下。
 - (一) 氨氮濃度與水色為中高度相關。
 - (二) 葉綠素濃度與水色為低中度相關。
 - (三) 卡爾森指標與水色為幾乎無關。
 - (四) 總磷濃度與水色為低度相關。
 - (五) 透明度與水色為低中度相關。因此以直接拍攝光譜的方法並無法取代現有之優養化指標，唯透明度之評估、水色之評估仍具有指標性之意義。
- 二、改善實驗誤差的方法
 - (一) 1. 盡量調整水樣至 pH=7
2. 若為自製檢量線，可試著初估待測水樣中的磷濃度為高或低，改變呈色試劑中硫酸濃度
 - (二) 可用錫箔紙包覆容量瓶來降低樣品照射到光的機率。
 - (三) 在夜晚進行實驗，使用固定光源避免陽光強度不一，並以拍照代替肉眼觀測減少人為誤差
 - (四) 1. 以大燒杯採集水樣，減少在水體中直接測量時可能受到生物因素(如：魚類撞擊、手抖)造成擾動進而影響讀值的機率。
2. 找出在不同水溫下溫度與溶氧量的對應關係，利用計算的方式將各水樣定溫以減少誤差。
- 三、替代的準確度，三等份~5 等份(能分出 低度: 中度: 高度:)

捌、參考資料

經濟部工業區(2002)。檢量線製作。經濟部工業區工業區環安人員培訓班。陳淑青。

http://ebooks.lib.ntu.edu.tw/1_file/moeaidb/013496/c3_06.pdf

行政附環境保護署。「總磷。NIEA W427.53B。分光光度計/維生素丙法」。取自：

<https://wq.epa.gov.tw/Code/Business/ItemMethod.aspx>

行政附環境保護署。「氨氮。NIEA W448.51B。靛酚比色法」。取自：

<https://wq.epa.gov.tw/Code/Business/ItemMethod.aspx>

行政附環境保護署。「葉綠素 a。NIEA E508.00B。乙醇萃取法」。取自：

<https://www.niea.gov.tw/niea/LIVE/E50800B.htm>

古煥林(2005)台灣水庫水質優養化最適指標之探討。桃園: 國立中央大學環境工程研究所在職專班

<http://etd.lib.nctu.edu.tw/cgi-bin/gs32/ncugsweb.cgi?o=dncucdr&s=id=%22NCU92336014%22.&searchmode=basic#XXXX>

楊棋明(2000)資源未來第 06 章—水資源。中央研究院生物多樣性研究中心

<http://biodiv.sinica.edu.tw/~cmyang/files/past/resource/06.ppt>

【評語】 052601

1. 本作品為具有應用性研究，利用簡易光譜儀拍攝水色並轉換成吸光度，取代傳統的標準檢驗方法，大量降低實驗的器材與藥品需求，此方法雖精確度較低，但卻可以快速得知水樣的相對優養化程度，建立更加簡易、清楚的優養化指標。研究目的以簡易快速、環境友善，但仍需清楚定義可應用的檢測範圍，能提升檢測效率。
2. 本作品使用自製光譜儀對水樣進行吸收度之觀察，嘗試快速得知水樣的相對優養化程度，以卡爾森指標評估水體優養化程度，輔以氨氮及 DO 判斷，並以自製光譜儀觀察水樣吸收度，擬建立吸收度與卡爾森指標關係。成果報告中各圖表宜呈現簡明標題，實驗數據宜附加誤差值。取樣方式與試樣保存方式均可能影響實驗結果，宜依標準作業模式處理。
3. 卡爾森指標是一個綜合水質指標，考慮總磷濃度、葉綠素 a 濃度與透明度，惟未能找出其吸收度與卡爾森指標之顯著關係。可重新檢討應用於單一指標如氨氮檢測並找出其檢測應用範圍及應用條件，並降低實驗量測過程人為干擾。此外，結論與建議撰寫可更具體說明。

摘要

本研究利用優養化評估方法-卡爾森指標，以測量總磷、葉綠素、透明度之值評估校園內四個不同水體的優養化程度，並輔以氨氮及溶氧度(DO)進行判斷，並嘗試使用自製光譜儀對水樣進行吸收度之觀察，未能找出其吸收度與卡爾森指標之顯著關係。

研究動機

在校園中，散布著4個大小不一的水體，有一池水目測呈深綠色，常被學生戲稱為綠豆湯。而經由地球科學科所學到的知識，我們認為池水的綠色是來自其中的藻類，這池水正是常見的優養化水體。經過肉眼進行觀察後，我們發現校園中其他三處水體似乎也有優養化的現象產生。讓我們不禁思考這四處水體到底哪一處的優養化的情形最為嚴重？

於是我們從網路上搜尋檢測優養化程度的方法，想要快速比較出四處水體的優養化程度，卻發現行政院環境保護署所公布的各項檢測標準方法，都存在一個問題，也就是過程複雜且冗長，需要太多專業設備及藥品，因此我們想要找出一個簡易、快速的方式來檢測水體的優養化程度。

研究目的

利用DIY之簡易光譜儀拍攝水色並轉換成吸光度，取代傳統的標準檢驗方法，大量降低實驗的器材與藥品需求，此方法雖較為簡略、不精確，但卻可以快速得知水樣的相對優養化程度，讓優養化程度的檢測不再只是專家才能做的實驗，建立一套更加簡易、清楚的優養化指標。

- 1、以標準方法測試不同的水樣，並評估其優養化程度。
- 2、以自製光譜儀拍攝不同的水樣。
- 3、分析兩者之間的相關性。

研究設備及器材

實驗藥品： NaOH 、 NH_4Cl 、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 、 H_2SO_4 、 $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ 、 $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{K}_2\text{O}_{15}\text{Sb}_2$ 、 $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ 、 $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ 、 KH_2PO_4 、 NaHSO_3 、 $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_4$ 、 $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ 、 $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 、DD water、結晶酚 $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$ 、 NaOCl 、亞硝鹽鐵氰化鈉 $\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 。

實驗器材：100ml燒杯、250ml燒杯、1000ml燒杯、100ml定量瓶、250ml錐形瓶、塑膠滴管、玻璃滴管、量筒、安全吸球、玻棒、刮勺、秤量紙、電子秤、離心機、離心管、分光光度計、樣品槽、自製光譜儀、抽風櫃、DO探針、黑白沙奇盤、鐵尺。

研究過程及方法

標準檢驗方法—總磷：分光光度計／維生素丙法〈引用自行政院環境保護署公佈之標準方法NIEA W427.53B〉

標準檢驗方法—氨氮：靛酚比色法〈引用自行政院環境保護署公佈之標準方法NIEA W448.51B〉

標準檢驗方法—葉綠素：乙醇萃取法

結果

水體及週遭環境

水樣1



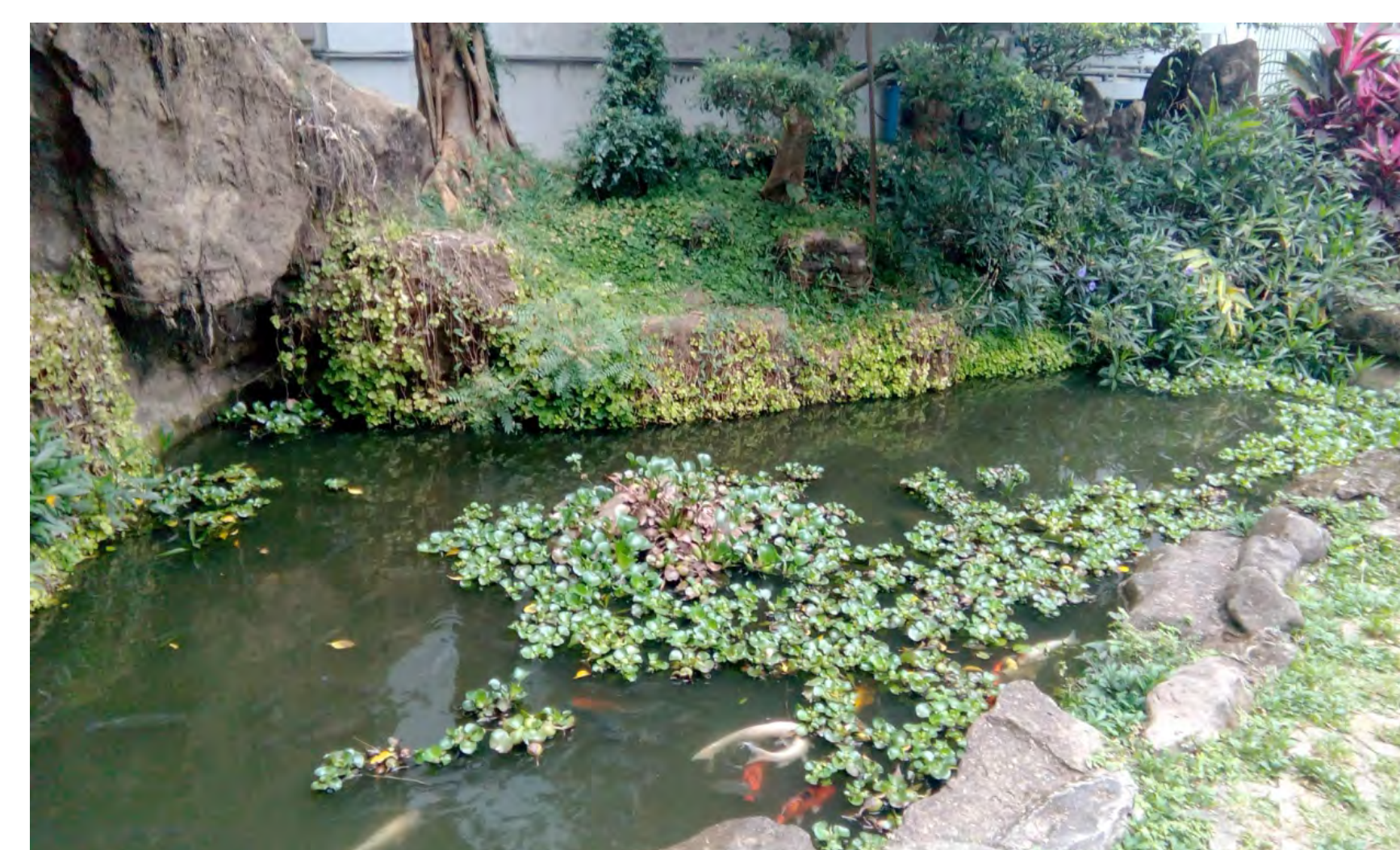
水樣2



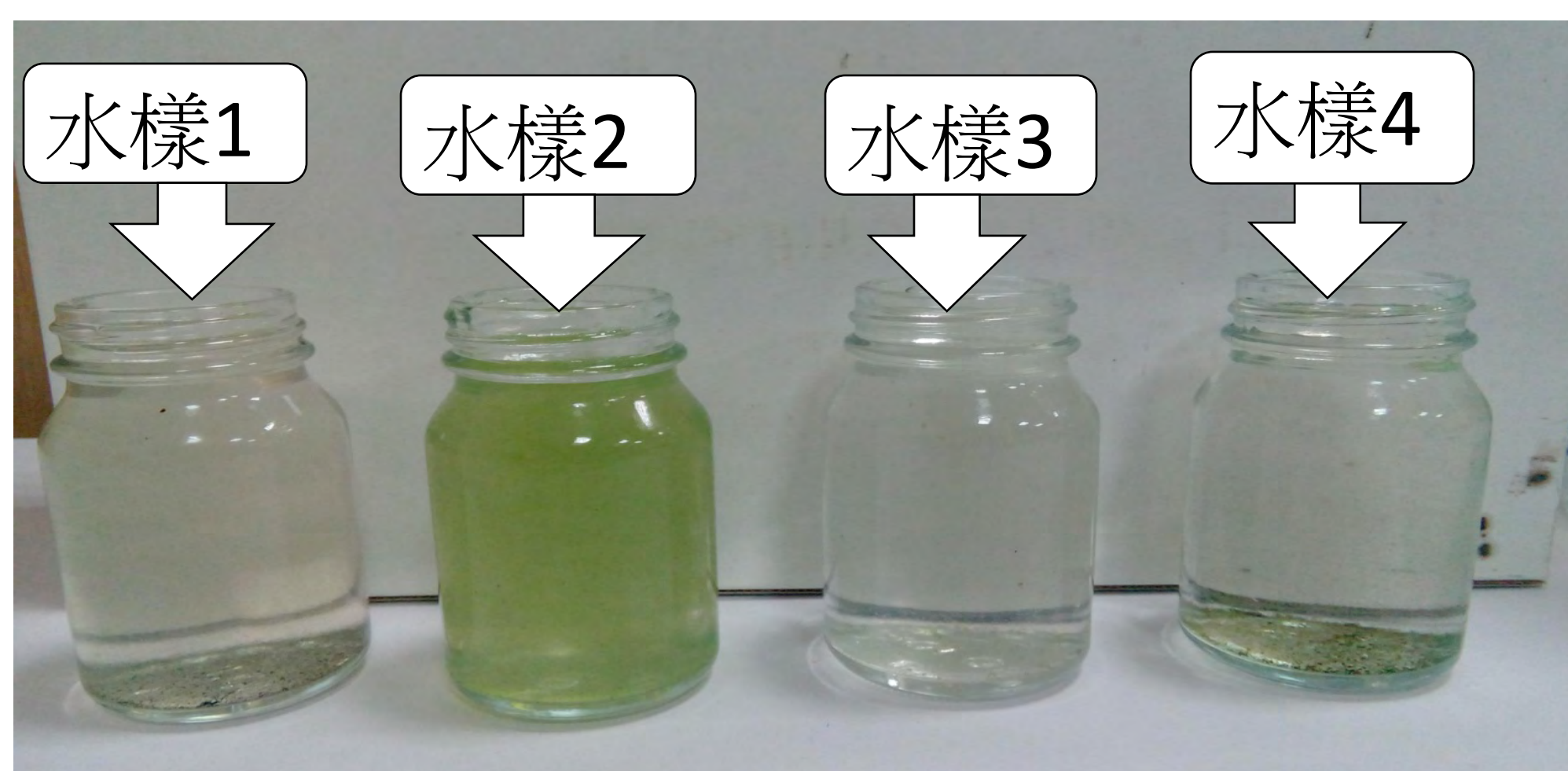
水樣3



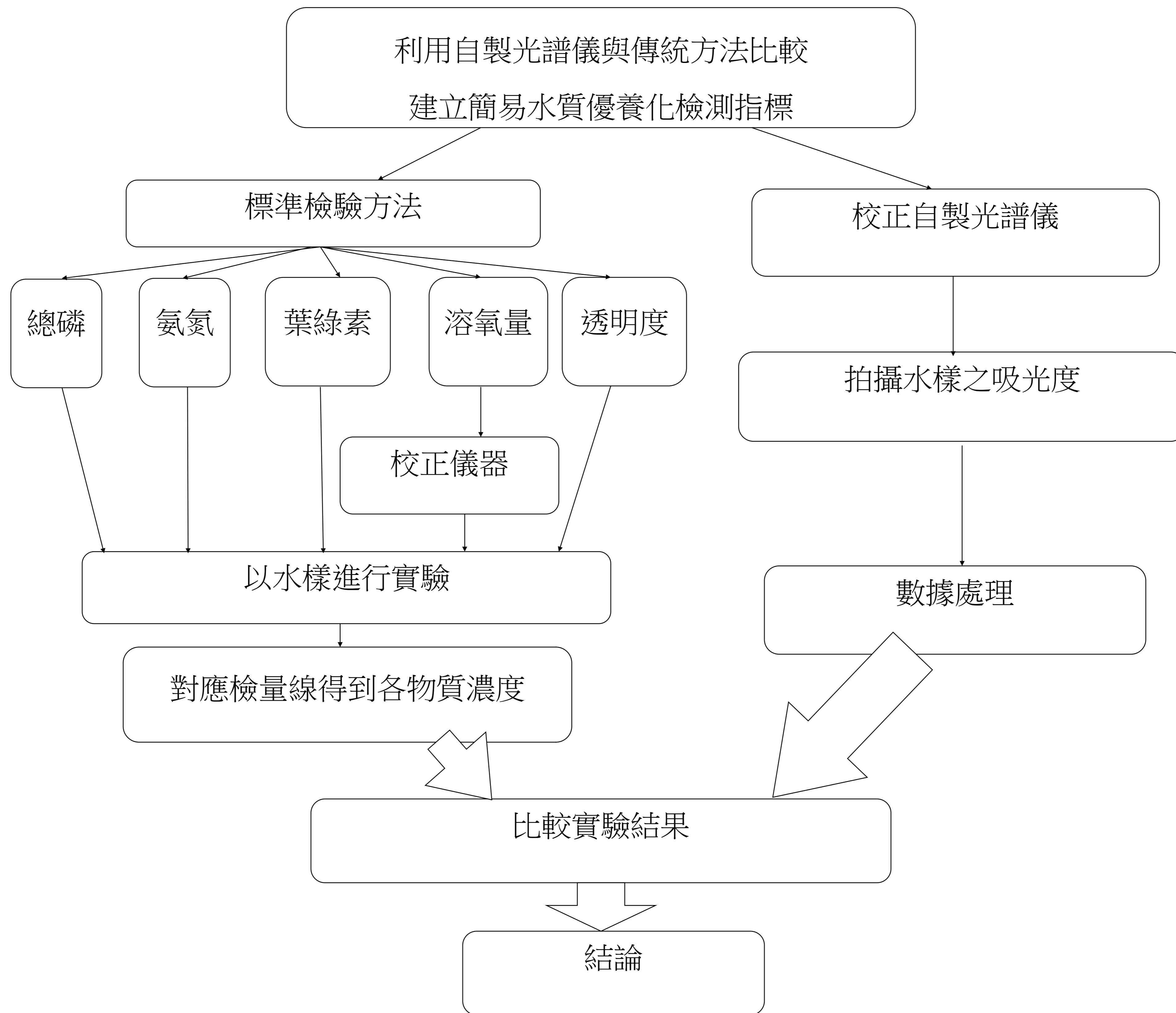
水樣4



水樣(目測)



研究過程



各項實驗之結果

氨氮	1st	2nd	3rd	4st	average	濃度(ppm)	總磷	水樣1	水樣2	水樣3	水樣4	透明度	1st	2nd	3rd	average
水樣1	0.03	0.099	0.071	0.116	0.079	0.0764	880nm之ABS	0.067	0.054	0.283	0.036	水樣1	N/A	N/A	N/A	N/A
水樣2	0.271	0.396	0.425	0.457	0.38725	0.309						水樣2	15.5	15.5	14.5	15.16667
水樣3	0.04	0.084	-0.003	0.047	0.042	0.0485	總磷濃度(ppm)	0.099744	0.080187	0.424703	0.053107	水樣3	18	15.5	15.5	16.33333
水樣4	0.153	0.024	0.376	0.389	0.2355	0.1945						水樣4	24	21	23.5	22.83333
卡爾森指標	TP		chl a		SD	TSI TP	TSI chl a	TSI SD	CTSI		DO	水樣1	水樣2	水樣3	水樣4	
1	0.099744		-0.00727		0	126.8449	0	0	42.28162		DO(ppm)	5.66	15.1	9.62	6.21	
2	0.080187		-2.214067		0.151667	129.5948	33.26366	96.39737	86.4186		O2(%)	66.9	166.2	110.8	72.4	
3	0.424703		1.6671		0.163333	108.5902	30.17083	95.15977	77.9736		溫度(C)	22.8	22.4	23.8	22.2	
4	0.053107		0.505967		0.228333	134.7866	17.17401	89.56504	80.50856		水樣1 1st	水樣1 2nd	水樣1 3rd	水樣1 4th	average	
649nm	0	-0.001	-0.003	-0.00133	0.011	0.011	0.009	0.010333	0.008	0.009	0.002	0.006333	0	0.001	0.001	0.000667
665nm	0.001	-0.001	-0.002	-0.00067	0.037	0.038	0.035	0.036667	0.036	0.028	0.017	0.027	0.007	0.007	0.009	0.007667
chl a					-0.00727			2.214067						1.6671		0.505967
chl all					-0.15393			2.153733						1.4581		0.300633

自製光譜儀

構造

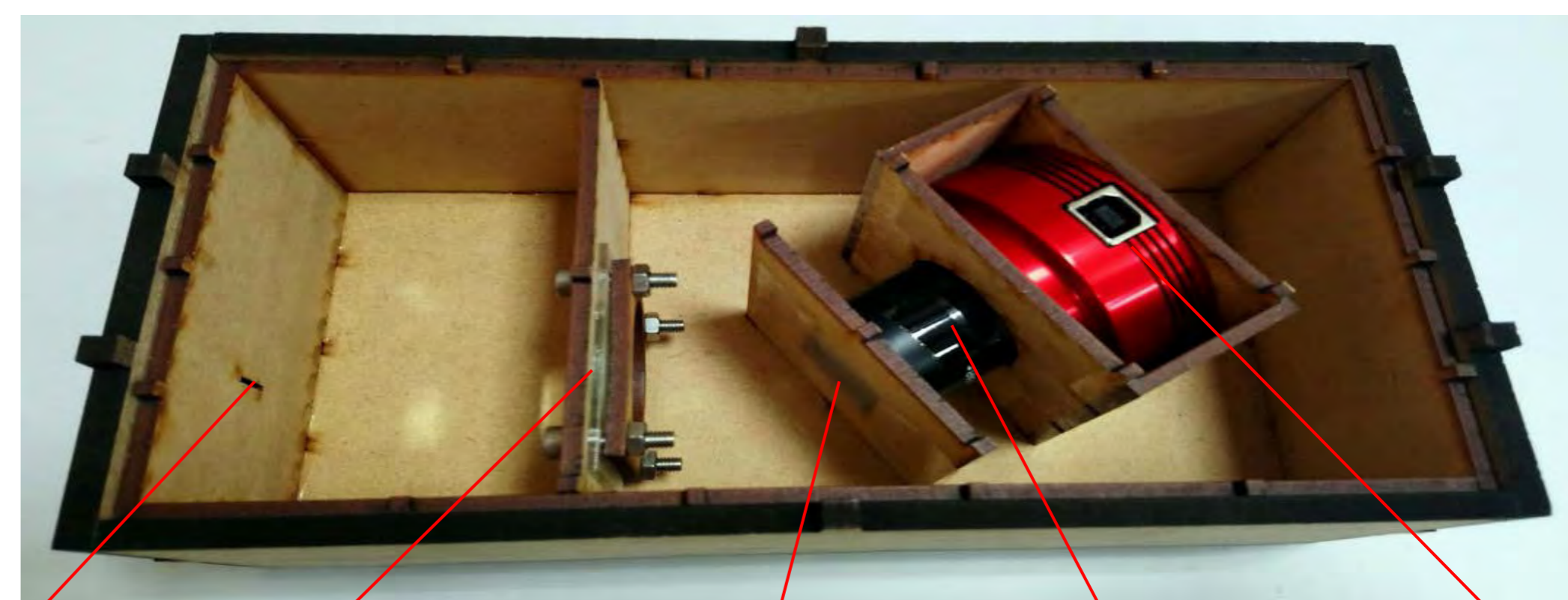
狹縫：利用銳利刀片邊緣，製成單狹縫

準直鏡：利用現成放大鏡將發散光折射成平行光

光柵：使用Edmund公司生產之1000line/mm的光柵片，使通過的平行光分散成連續光譜的形式

鏡頭及CCD：使用ZWO公司生產之ASI120mmCCD進行光譜拍攝

軟體：使用ImagrJ將所拍攝之光譜照片以像素-光強度的形式輸出成Excel檔，再利用像素轉波長的公式，將Excel內的每一像素變成波長，以方便取得我們所需波段的光強度數據。



狹縫

準直鏡

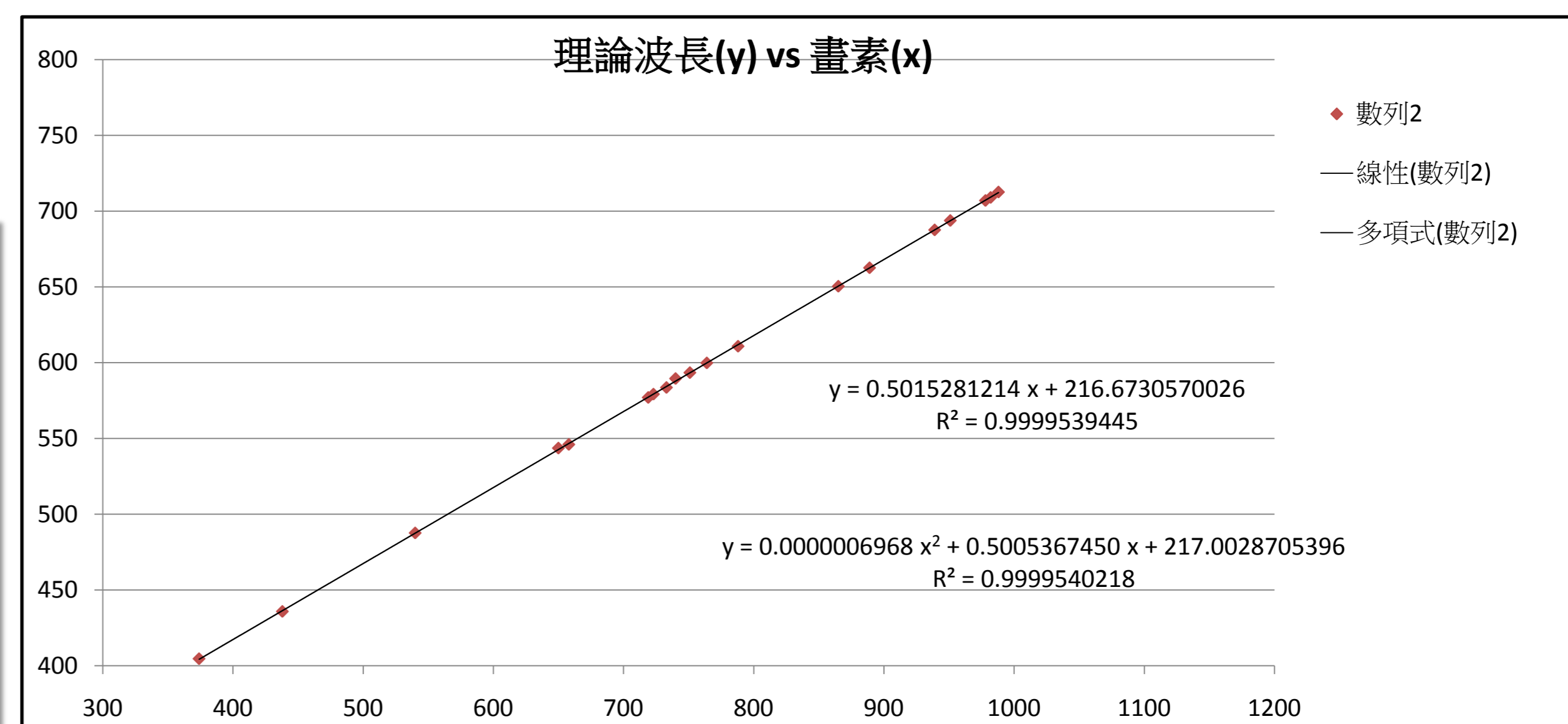
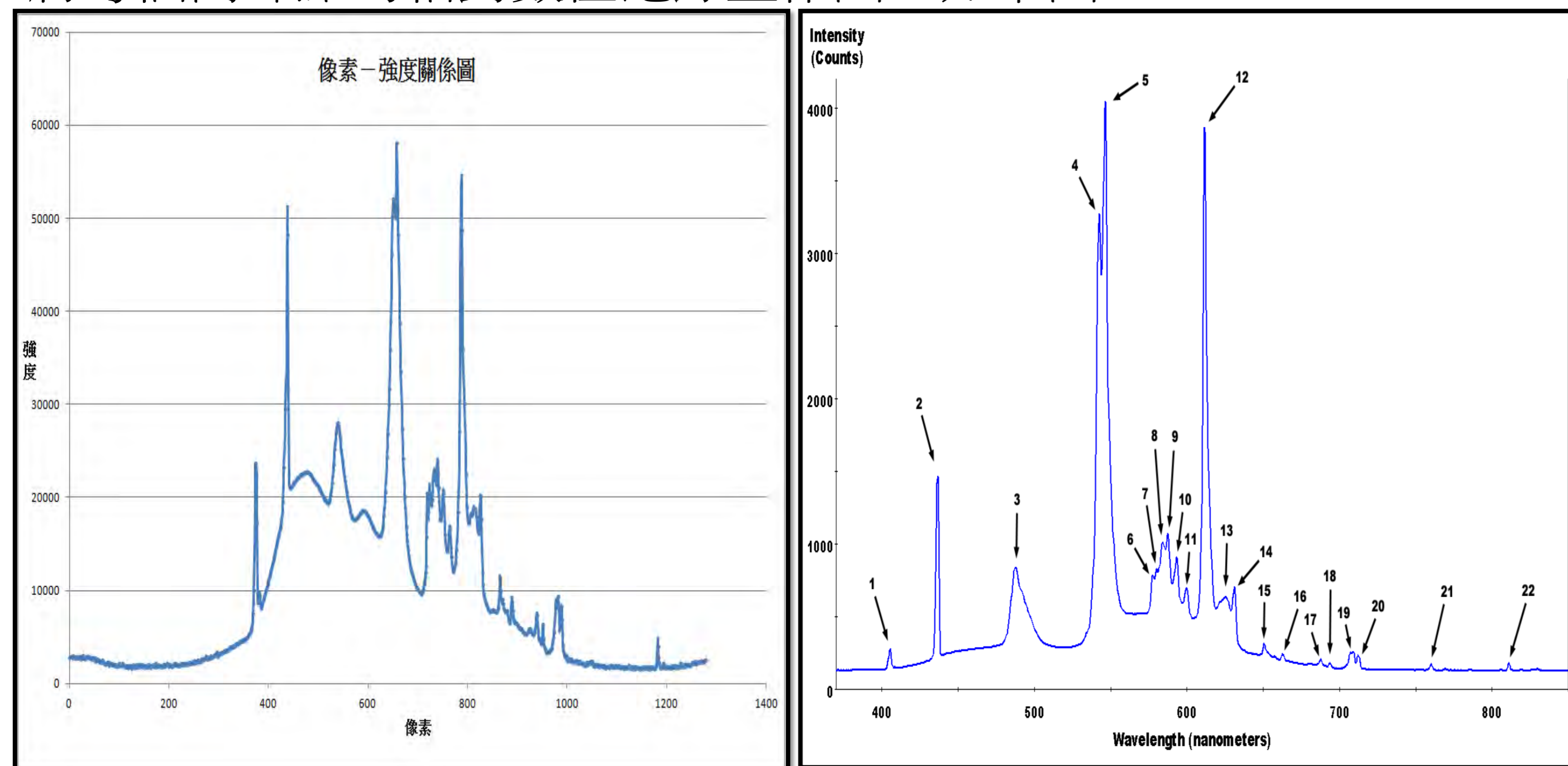
光柵
(1000line/mm)

鏡頭

CCD(ASI120M)

校正

我們利用自製光譜儀在日光燈下拍攝像素對強度之折線圖，再利用網路上能夠輕易找到的標準日光燈光譜圖進行高峰之比對，將每個高峰點的相對數值紀錄並作圖。如下圖

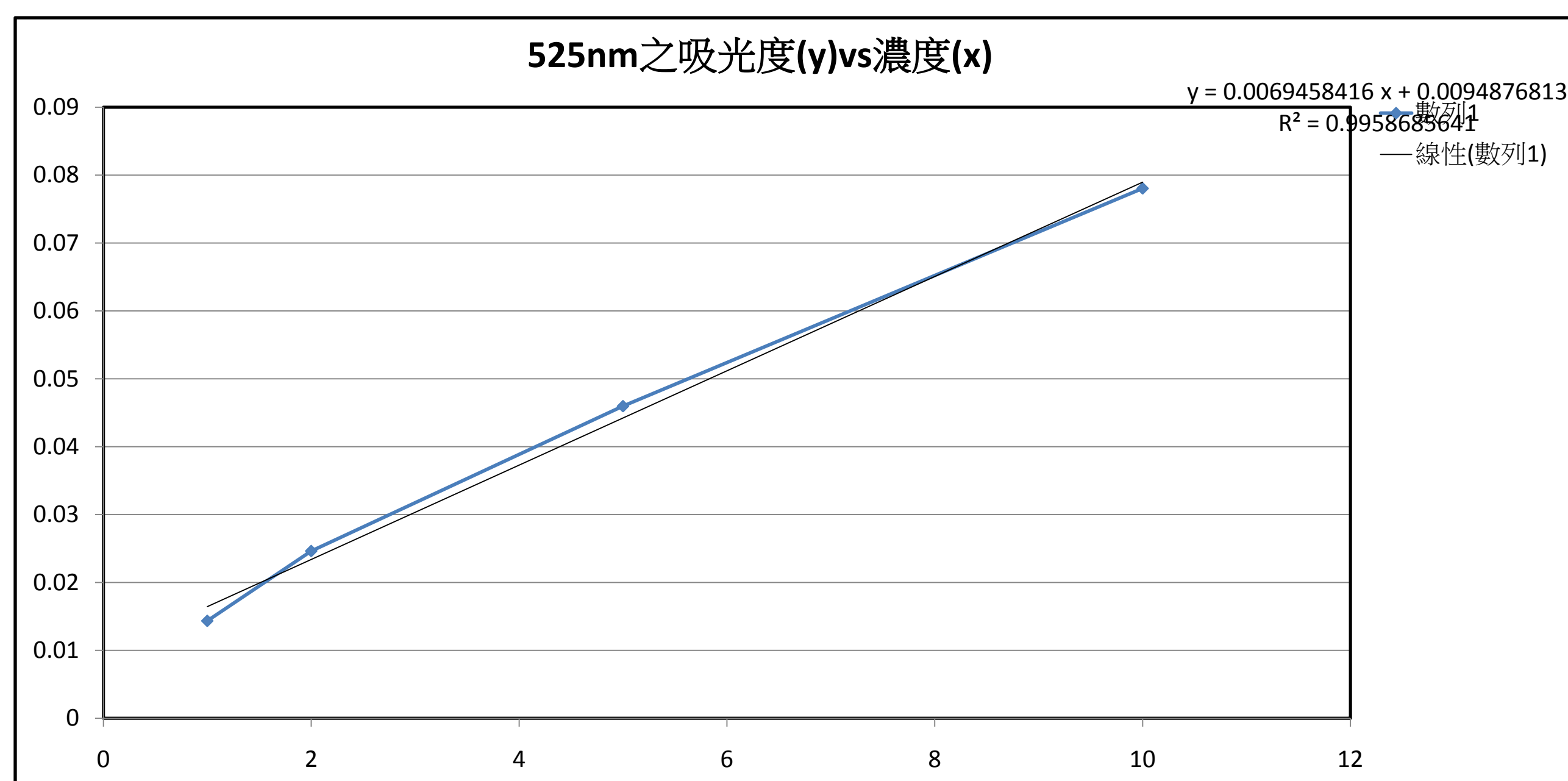


上圖為以一般日光燈為標準光源之校準線，可以發現，其R平方值不管是用線性或是二次項都極高，因此自製光譜儀在準確度上是可以被相信的。

測試

在不同濃度(ppm)之過錳酸鉀(KMnO₄)下，使用自製光譜儀進行拍攝，以確認自製光譜儀所能拍攝物質最小濃度的極限為何，建立自製光譜儀可準確使用之濃度範圍及誤差範圍。

由左圖可知物質濃度在1~10ppm下，自製光譜儀具有高精準度。



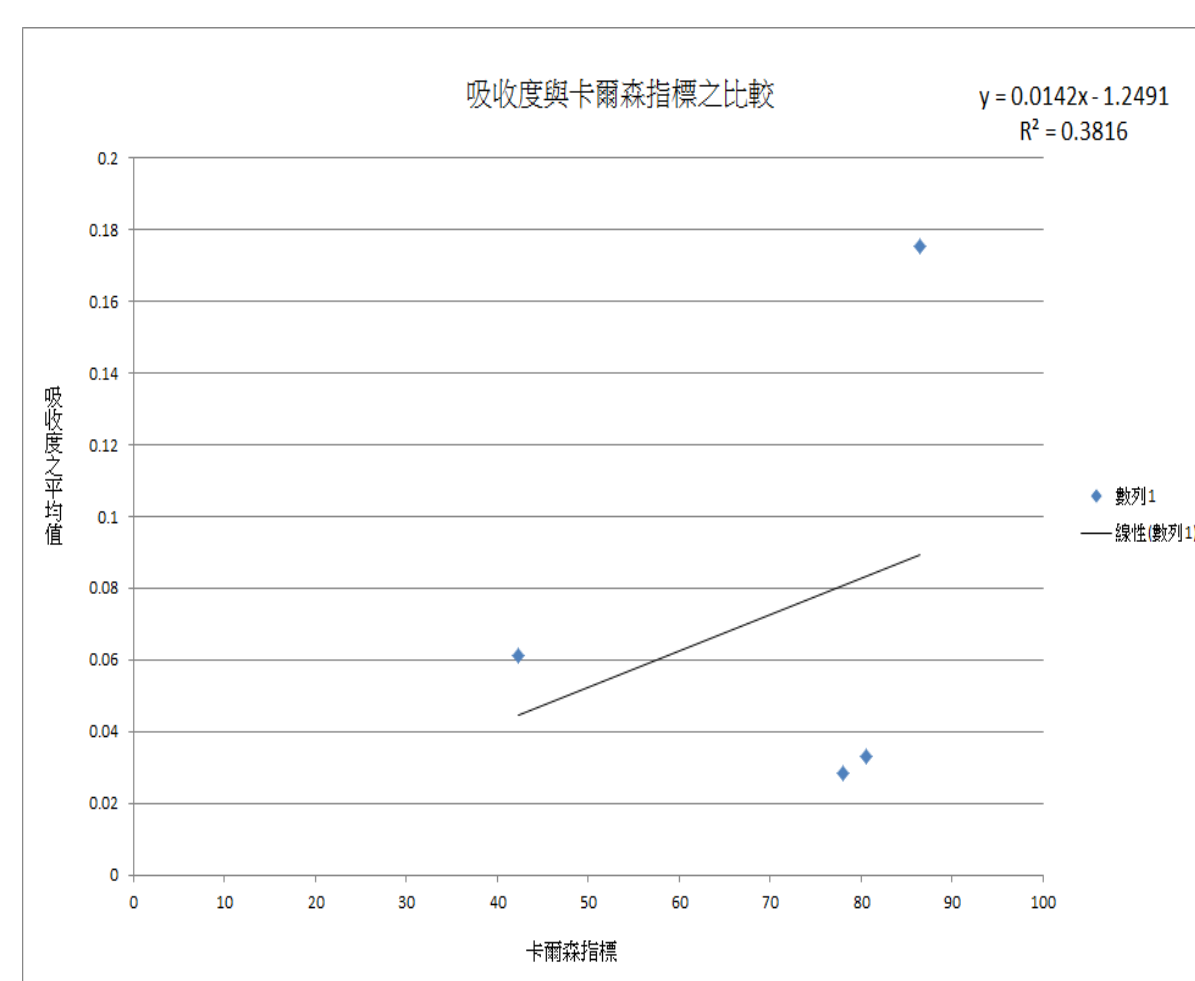
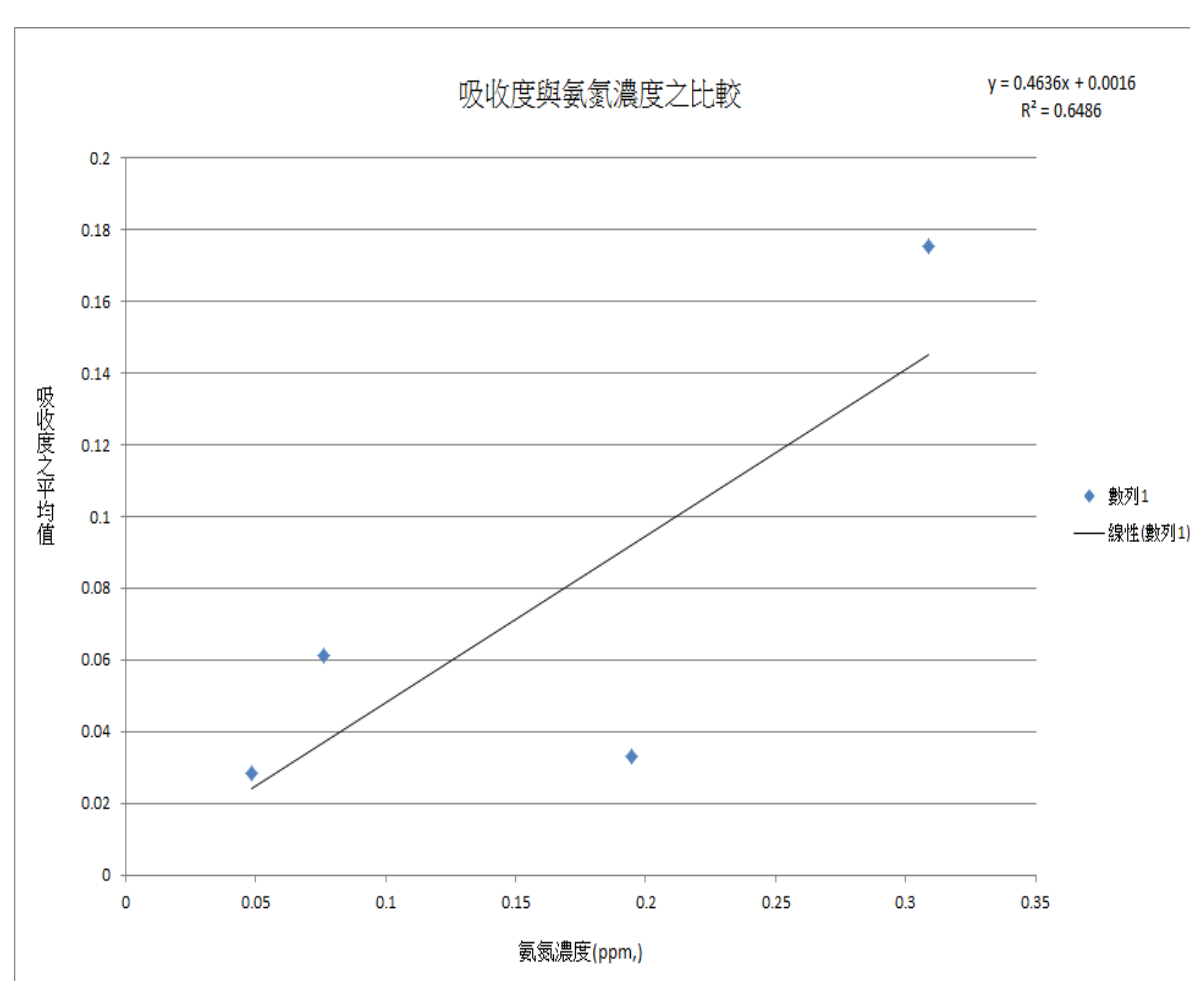
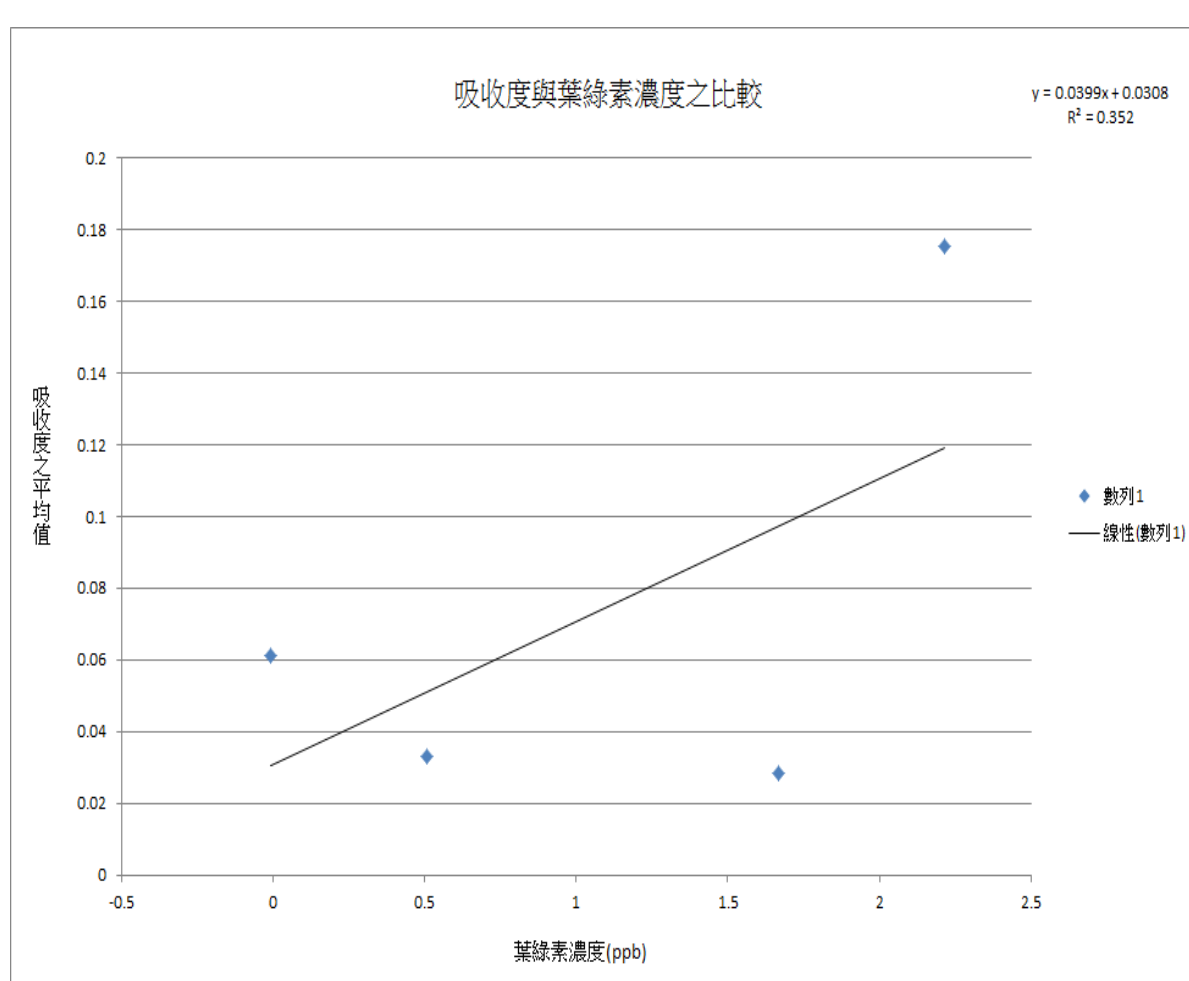
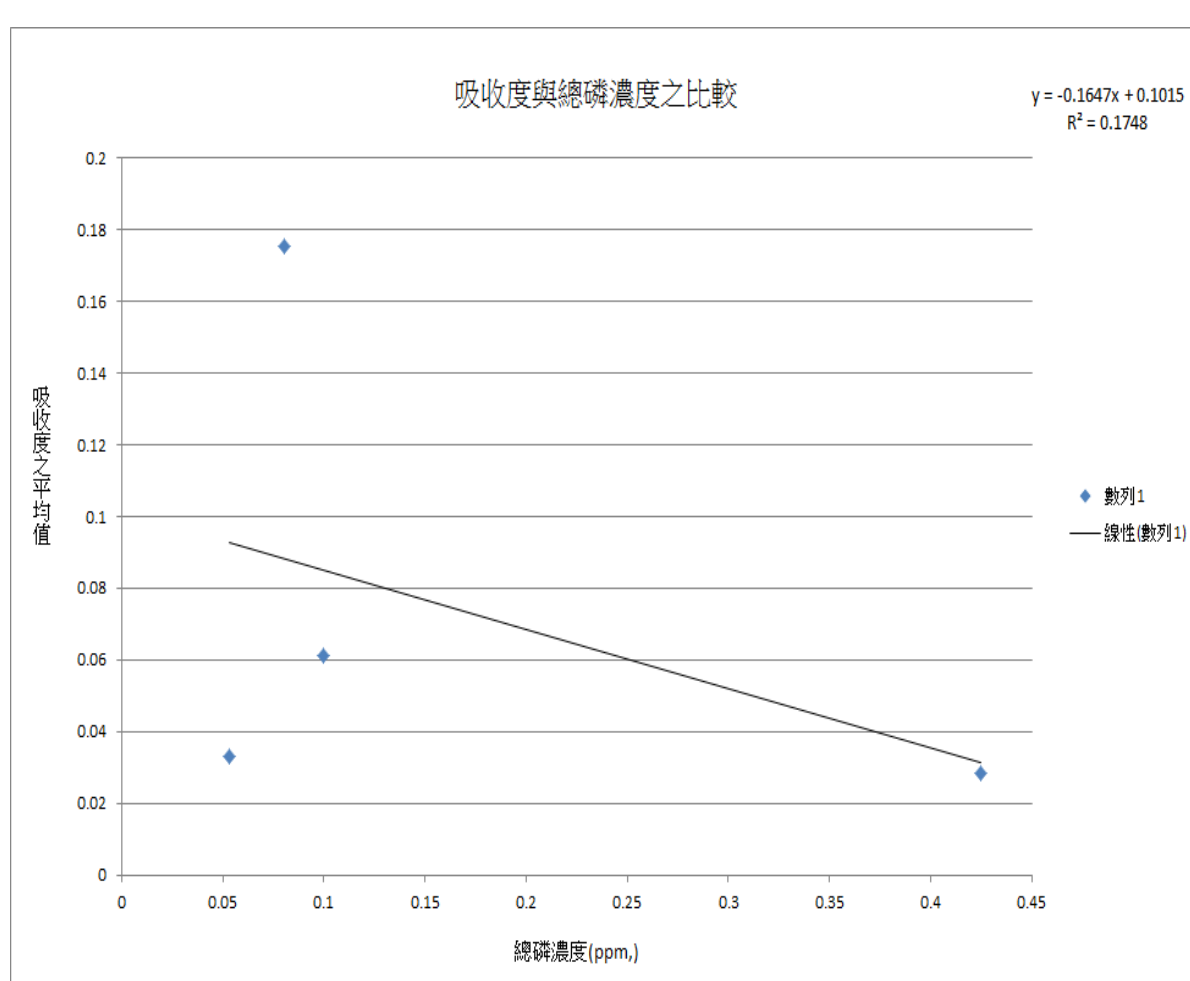
以400-650nm為區間，對其吸收度做平均，並比較各項指標與水色之間的關係。

總磷濃度與水色關係

葉綠素濃度與水色關係

氨氮濃度與水色關係

卡爾森指標與水色關係



實驗誤差與來源

1. 在總磷實驗中我們發現PH值是影響鉬藍呈色的決定性因素，不只是水樣的PH值要盡量維持在PH=7，我們還發現一旦調整呈色試劑中硫酸的濃度，就可以大幅改變呈色狀況，降低硫酸濃度會使低濃度的標準品也能呈現出淡淡的藍色，但也會讓高濃度的標準品顏色變得更深，反之亦然。
2. 在氨氮實驗中，呈色試劑容易受光照而變質，進而產生嚴重的實驗誤差。
3. 透明度：傳統之透明度判斷為利用沙奇盤方法，但此方案受限環境光源與不同操作者視力之誤差。
4. DO：由於溶氧探針非常敏感，所有輕微晃動皆會造成螢幕上讀值的提升。

依照各指標所得出各水體之優養化程度，如下表。

	水樣1	水樣2	水樣3	水樣4
CTSI	貧養	中養	貧養	中養
總磷	優養	優養	優養	優養
氨氮	貧養	優養	貧養	優養
chl a	貧養	貧養	貧養	貧養
DO	中養	優養	優養	中養

改善實驗誤差的方法

1. 盡量調整水樣至pH=7
2. 若為自製檢量線，可試著初估待測水樣中的磷濃度為高或低，改變呈色試劑中硫酸濃度
3. 可用錫箔紙包覆容量瓶來降低樣品照射到光的機率。
4. 在夜晚進行實驗，使用固定光源避免陽光強度不一，並以拍照代替肉眼觀測減少人為誤差
5. 以大燒杯採集水樣，減少在水體中直接測量時可能受到生物因素(如：魚類撞擊、手抖)造成擾動進而影響讀值的機率。
6. 找出在不同水溫下溫度與溶氧量的對應關係，利用計算的方式將各水樣定溫以減少誤差

結論

依評估水體之優養化狀態之原始卡爾森指標，水樣1為中養、水樣2~4皆為優養。經古煥林(2005)指出在台灣的環境下，計算時應該要做些微調整，故修正為水樣1為貧養、水樣2為中養、水樣3為貧養、水樣4為中養。

以自製光譜儀直接拍攝水色與各項指標之關係，具體如下。

1. 氨氮濃度與水色為中高度相關。
2. 葉綠素濃度與水色為低中度相關。
3. 卡爾森指標與水色為幾乎無關。
4. 總磷濃度與水色為低度相關。
5. 透明度與水色為低中度相關。

因此以直接拍攝光譜的方法並無法取代現有之優養化指標，唯透明度之評估、水色之評估仍具有指標性之意義。

參考資料

- 一、經濟部工業區(2002)。檢量線製作。經濟部工業區工業區環安人員培訓班。陳淑青。取自：http://ebooks.lib.ntu.edu.tw/1_file/moeaidb/013496/c3_06.pdf
- 二、行政院環境保護署。「總磷。NIEA W427.53B。分光光度計/維生素丙法」。取自：<https://wq.epa.gov.tw/Code/Business/ItemMethod.aspx>
- 三、行政院環境保護署。「氨氮。NIEA W448.51B。靛酚比色法」。取自：<https://wq.epa.gov.tw/Code/Business/ItemMethod.aspx>
- 四、行政院環境保護署。「葉綠素a。NIEA E508.00B。乙醇萃取法」。取自：<https://www.niea.gov.tw/niea/LIVE/E50800B.htm>
- 五、古煥林(2005)台灣水庫水質優養化最適指標之探討。桃園:國立中央大學環境工程研究所在職專班